

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ

ANALYSE DER DOSISABHÄNGIGEN PHARMAKOKINETIK
VON PHENPROCOUMON IN RATTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE DES DOKTORS DER MEDIZIN
DER JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT IN MAINZ
DEM FACHBEREICH MEDIZIN

VORGELEGT VON

BERNHARD R. WINKELMANN
AUS NEUSTADT/WEINSTRASSE

MAINZ 1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552617_0040

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ

ANALYSE DER DOSISABHÄNGIGEN PHARMAKOKINETIK
VON PHENPROCOUMON IN RATTEN

INAUGURAL - DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE DES DOKTORS DER MEDIZIN
DER JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT IN MAINZ
DEM FACHBEREICH MEDIZIN

VORGELEGT VON

BERNHARD R. WINKELMANN
AUS NEUSTADT/WEINSTRASSE

MAINZ 1981



Dekan:	Prof. Dr. K.H. Bäbler
1. Gutachter:	Prof. Dr. E. Jähnchen
2. Gutachter:	Prof. Dr. Dr. H. Bolt
Tag der mündlichen Prüfung:	11. November 1981

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Material und Methoden	
1. Versuchstiere	3
2. Arzneimittel	3
3. Versuchsablauf	3
3.1 Verabreichung von Phenprocoumon	4
3.2 Probengewinnung	4
4. Analytische Methoden	
4.1 Verwendete Substanzen	5
4.2 Messen der Prothrombinkomplexaktivität	6
4.3 Bestimmung des Phenprocoumongehaltes	7
4.4 Bestimmung der Bindung an Serumproteine und an Lebergewebe	8
5. Versuchsauswertung	
5.1 Pharmakokinetische Analyse	9
5.2 Statistische Auswertung	13
C. Ergebnisse	
1. Einfluß der Dosis auf die Pharmakokinetik und die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon	
1.1 Einfluß auf die Eliminationskinetik und die Verteilungsvolumina	14
1.2 Einfluß auf die Verteilung zwischen Leber und Plasma	17
1.3 Einfluß auf die gerinnungshemmende Wirk- samkeit von Phenprocoumon	19

2.	Einfluß der Serumproteinbindung auf Pharmakokinetik und gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon	21
2.1	Einfluß auf die Eliminationskinetik und die Verteilungsvolumina	21
2.2	Einfluß auf die Verteilung zwischen Leber und Plasma	29
2.3	Einfluß auf die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon	34
D. Diskussion		
	Der Einfluß der Dosis auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon	38
	Der Einfluß der Serumproteinbindung auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon nach unterschiedlichen Dosen	41
	Der Einfluß der Dosis und der Serumproteinbindung auf den gerinnungshemmenden Effekt von Phenprocoumon	45
E.	Zusammenfassung	46
F.	Literaturverzeichnis	49

A. E I N L E I T U N G

Phenprocoumon ist ein orales Antikoagulans vom Cumarin-Typ. Es wird klinisch zur Prophylaxe und Therapie thrombo-embolischer Erkrankungen verwendet. In der experimentellen Pharmakologie haben Cumarinderivate besonderes Interesse erlangt, da sich die Wirkung exakt und leicht anhand von Gerinnungsuntersuchungen quantifizieren läßt und sich somit im Tierversuch, als auch in Versuchen am Menschen Konzentrations-Wirkungsbeziehungen ermitteln lassen (Nagashima et al., 1969; Wingard und Levy, 1973). So konnten vor allem bei diesen Pharmaka die Beziehungen zwischen Pharmakokinetik und pharmakologischer Wirkung untersucht werden und insbesondere verschiedene Mechanismen von Arzneimittelwechselwirkungen analysiert und aufgeklärt werden (Koch-Weser und Sellers, 1971).

Die Pharmakokinetik der Cumarinderivate Warfarin und Phenprocoumon ist gut definiert in Mensch (O'Reilly et al., 1964; Seiler und Duckert, 1968; Jähnchen et al., 1976; Bachmann und Shapiro, 1977; Kelly und O'Malley, 1979) und Ratte (Levy und Yacobi, 1974; Haddock und Trager, 1975; Schmidt und Jähnchen, 1977; Levy et al., 1978; Schmidt und Jähnchen, 1979; Trenk und Jähnchen, 1980). Es sind saure Pharmaka mit hoher Plasmaproteinbindung. Ihre Elimination aus dem Organismus erfolgt nahezu vollständig durch Abbau zu wasserlöslichen Metaboliten in der Leber. In pharmakokinetischen Modellen läßt sich ihr Verhalten im Organismus mit Hilfe eines Einkompartmentsystems beschreiben, d.h. die Distributionsphase ist gegenüber der Eliminationsphase quantitativ von untergeordneter Bedeutung. Bisher wurde angenommen, daß die Elimination der Monocumarinderivate einem Prozess erster Ordnung folgt, unabhängig von der Dosis ist und das Gesetz der Superposition auf diese Substanzen anwendbar ist (O'Reilly und Aggeler, 1970). Der pharmakokinetische Parameter, der dieser Annahme

zugrunde liegt, ist die im Plasma gemessene biologische Halbwertszeit. Da die Halbwertszeit eine Funktion verschiedener pharmakokinetischer Parameter (Serumproteinbindung, Verteilung zwischen Plasma und Organismus und metabolischer Kapazität der Leber) ist (Rowland und Tozer, 1980), wäre es vorstellbar, daß prinzipiell verschiedene nichtlineare und dosisabhängige Prozesse vorhanden sein könnten, die teilweise entgegengesetzt gerichtet sind, sich kompensieren und in ihrer Gesamtheit als linearer dosisunabhängiger Prozess imponieren. Da die Ratte ein geeignetes Tiermodell zum Studium oraler Antikoagulantien darstellt (Wingard und Levy, 1973) und hier diese Teilprozesse über einen therapeutisch relevanten Dosisbereich ermittelt werden können, sollte in der vorliegenden Arbeit in Ratten der Einfluß der Dosis auf die Verteilung und Elimination von Phenprocoumon untersucht werden.

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche Sprague-Dawley Ratten (Süddeutsche Versuchstieranstalt, Tuttlingen) verwendet. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und Futter (Altromin^R, Fa. Altromin, Lage).

2. Arzneimittel

Es wurden tritium-markiertes Phenprocoumon (selektiv markiert in der Alkylseitenkette) mit einer spezifischen Aktivität von $773 \mu\text{Ci} \cdot \text{mg}^{-1}$ und nichtmarkiertes Phenprocoumon eingesetzt. (Die Substanzen stellte die Fa. Hoffmann-La Roche&Co, Basel zur Verfügung).

3. Versuchsablauf

24 Tiere wurden randomisiert und in zwei Gruppen zu je zwölf Tieren eingeteilt. Im ersten Versuch erhielt eine Gruppe eine intravenöse Dosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon, die andere $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Bei allen Tieren wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion (bis 72 Stunden) Blutproben aus der Schwanzarterie entnommen und im Plasma die Phenprocoumonkonzentration sowie die Gerinnungszeit gemessen. Vier Wochen später erhielten alle Tiere nochmals die gleiche Dosis wie beim ersten Versuch. Zwölf Stunden nach der Injektion wurden die Tiere durch Punktion der Bauchorta entblutet und die Leber entnommen. In Serum und Leberhomogenat wurde anschließend die Proteinbindung bestimmt. Das restliche Serum und das Leberhomogenat wurden bis zur Analyse bei -24°C eingefroren.

3.1 Verabreichung von Phenprocoumon

Aus analytischen Gründen erhielten die Tiere ein Gemisch von ^3H - Phenprocoumon (20 - 40 μCi pro ml Injektionslösung) und nichtmarkiertem Phenprocoumon. Phenprocoumon wurde dazu in 50 μl 0,5 N NaOH gelöst und mit physiologischer Kochsalzlösung entsprechend der gewünschten Konzentration verdünnt, so daß die Injektionsvolumina 0,8 - 1,0 ml pro Ratte betrugen. Die Lösung wurde mit einer Tuberkulinspritze und einer Kanüle Nr. 20 in die Penisvene injiziert.

3.2 Probengewinnung

Die Blutproben wurden durch Punktion der Schwanzarterie (Wingard und Levy, 1973) in leichter Äthernarkose gewonnen. Die Entnahme erfolgte durch sterile Einmalkannülen mit luer-lok Ansatz, worauf ein auf 0,45 ml geeichter Polyäthylenschlauch 3 x 4 mm (Fa. Pfau-Wanfried GmbH, Melsungen) gesteckt war. Die Probe wurde mit 0,05 ml Natrium-Oxalatlösung (1,34 g Natriumoxalat in 100 ml 0,7%iger Kochsalzlösung) in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß Nr. 3810 (Eppendorf Gerätebau, Nethelen und Hinz GmbH, Hamburg) gemischt und damit ungerinnbar gemacht. Der Hämatokrit wurde mit heparinisierten Kapillarröhrchen in einer Mikrozentrifuge (Beckman Mikrofuge B, Fa. Beckman, München) bestimmt. Die Plasma-phase wurde nach Zentrifugation in einer Eppendorf Zentrifuge 3200 bei 12000 U/min mit einer Pasteurpipette abgehoben und in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß bis zur Analyse bei -24°C eingefroren.

Zur Bestimmung der Bindung von Phenprocoumon an Serum und Leberproteine, sowie des Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnisses wurde den Tieren zwölf Stunden nach der Injektion von Phenprocoumon der Bauchraum in

leichter Äthernarkose eröffnet, und die Tiere wurden durch Punktion der Bauchorta entblutet. Die Punktion erfolgte mit einer Kanüle Nr. 1 und einer zentrifugierbaren Spritze (Monovette R, Fa. Sarstedt, Nümbrecht). Nach dem Eintritt der Gerinnung wurde das Blut für 15 Minuten bei $4500 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ zentrifugiert und das Serum abgehoben (Zur Bestimmung der Serumproteinbindung siehe 4.4).

Die Leber wurde nach der Entnahme unter leichtem Druck vom Blut befreit, mit der Schere grob zerkleinert, im Verhältnis 1:4(g/g) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und mit einem Ultra-Turrax (Fa. Janke&Kunkel KG, Staufen i. Br.) homogenisiert (1 Min. bei 3000 U/min). Das Leberhomogenat wurde anschließend zur Bestimmung der Lebergewebsbindung und der Arzneimittelkonzentration verwendet (Siehe 4.3, 4.4).

4. Analytische Methoden

4.1 Verwendete Substanzen und Herstellung der Puffer

Die verwendeten Substanzen mit dem Reinheitsgrad "pro Analysi" wurden von Fa. E. Merck, Darmstadt bezogen.

Zusammensetzung der benötigten Puffer:

Zitrat-Puffer

Zitronensäure	• 1 H_2O	20,89 g
Dikaliumhydrogenphosphat	• 3 H_2O	11,63 g
Wasser	ad	100,00 ml

Zum Gebrauch wurde diese Stammlösung mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:2,5 verdünnt. Der fertige Puffer hatte einen pH-Wert von etwa 2,8.

Sørensen-Phosphat-Puffer

Stamm A: Kaliumdihydrogenphosphat 9,08 g
Wasser ad 1000,00 ml

Stamm B: Dinatriumhydrogenphosphat
• 2 H₂O 11,88 g
Wasser ad 1000,00 ml

Der fertige Puffer wurde durch Mischen der Stammlösungen A und B auf einen pH-Wert von 7,40 eingestellt.

4.2 Messen der Prothrombinkomplexaktivität

Die Bestimmung erfolgte nach Quick (Quick, 1966) mit einem Koagulometer nach Schnitger und Gross. Für die Gerinnungsanalyse wurden Plastikröhrchen (RR GLKL, Fa. Greiner, Nürtingen) verwendet, um eine Voraktivierung durch raue Glasoberflächen zu vermeiden. Als Thromboplastin-Reagenz stand Thromborel^R (Behringwerke, Marburg), ein lyophilisiertes, kalziumhaltiges Human-Thromboplastin aus Placenten, zur Verfügung. Thromborel^R wurde vor der Messung in sterilem Wasser gelöst und wenigstens 15 Minuten bei 37°C vorinkubiert. Als Plasmavolumen mußte 0,1 ml eingesetzt werden. Da insgesamt nur 0,2 ml Plasma für alle Untersuchungen vorhanden waren, wurde 0,01 ml Plasma mit 0,09 ml Verdünnungsplasma (s.u.) gemischt, im Plastikröhrchen 30 Sekunden bei 37°C inkubiert und danach mit 0,2 ml Thromboplastin-Reagenz versetzt. Die Gerinnungszeit ergibt sich aus dem Zeitraum vom Moment der Thromboplastinzugabe bis zur Auslösung eines elektrischen Kontaktes durch entstehende Fibrinfäden.

Das Verdünnungsplasma ist ein inaktiviertes Plasma von Tieren gleichen Geschlechtes und gleicher Zucht. Auf

diese Weise wird verhindert, daß die Fibrinogenkonzentration zum begrenzenden Faktor wird. Limitierend sind nur die Vitamin K-abhängigen Faktoren II, VII, IX, X und Faktor V. Durch die Zugabe des Verdünnungsplasmas können sehr kleine Plasmavolumina gemessen werden. Gleichzeitig bedingt die verlängerte Prothrombinzeit eine erhöhte Meßgenauigkeit.

Verdünnungsplasma wird durch Inkubation (dreimal je eine Minute bei 37°C, dazwischen 15 Sekunden schützen) von Rattenmischplasma mit Bariumsulfat (100 mg BaSO₄/ml Mischplasma) hergestellt (Quick, 1966). Das Plasma gilt bei Gerinnungszeiten über 600 Sekunden als inaktiv. Die Berechnung der Prothrombinkomplexaktivität in Prozent erfolgt aus den gemessenen Prothrombinzeiten unter Benutzung einer Bezugskurve, die durch Messung der Prothrombinzeiten nativen Rattenmischplasmas, verdünnt mit inaktiviertem Plasma auf Aktivitäten zwischen 10 bis 100%, erstellt wird. Allen angegebenen Werten liegen Zweifachbestimmungen zugrunde.

4.3 Bestimmung des Phenprocoumongehaltes

Wegen der geringen Plasmavolumina von rund 0,2 ml/Probe und der niedrigen Plasmakonzentrationen bei einer Dosis von 0,1 mg · kg⁻¹ Phenprocoumon mußte radioaktiv markiertes Phenprocoumon verwendet werden. Daher erhielten die Ratten Gemische von markiertem und nicht-markiertem Phenprocoumon (Siehe 3.1 Verabreichung der Arzneimittel).

Die quantitative Bestimmung erfolgte durch Szintillationsmessung des racemischen ³H-Phenprocoumonanteils nach einer beschriebenen Methode (Schmidt und Jähnchen, 1979). Zu 0,1 ml der Probe wurden 0,5 ml Zitratpuffer gegeben und mit 2,5 ml n-Heptan 30 Minuten lang auf

einem Schüttler bei $175 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ extrahiert. Nach achtminütiger Zentrifugation wurden 2 ml der Heptanphase in ein Polyäthylenszintillationsgefäß (Nr. 174-1B, Fa. W. Zinsser, Frankfurt) pipettiert, mit 10 ml Szintillationslösung (Quickszint 402, Fa. W. Zinsser, Frankfurt) vermischt und bei 4°C im Szintillationszähler (Packard Tri-Carb Liquid Szintillation-Spectrometer Model 3380, Packard Instruments Company Inc., Downers Grove, Ill. USA) gemessen.

Mittels eines in Toluol gelösten Tritium-Standards wurde eine Quenchkurve erstellt, aus der die Zählausebeute zur Umrechnung der ausgedruckten Zählrate des Gerätes auf tatsächliche Zerfälle pro Minute entnommen wurde. Die Wiederfindung im Plasma beträgt konzentrationsunabhängig über 95% (Schmidt und Jähnchen, 1979), im Leberhomogenat lag sie bei $71,1 \pm 1,5\%$. Die Berechnung der Phenprocoumongesamtkonzentration erfolgte unter Berücksichtigung des Verhältnisses von markiertem und nichtmarkiertem Phenprocoumon in der Injektionslösung.

4.4 Bestimmung der Bindung an Serumproteine und an Lebergewebe

Die Bindung von Phenprocoumon an Serumproteine und an Lebergewebe wurde mit Hilfe der Gleichgewichtsdialyse gemessen. Die Dialysezellen bestehen aus handgearbeiteten verschraubbaren Plexiglashälften zwischen die eine Cellophanmembran (Union Carbide Corp., Chicago, Ill., USA) gelegt wird, so daß zwei Kammern mit einem Fassungsvermögen von je einem Milliliter entstehen. Die Cellophanmembranen wurden vorher 24 Stunden in bidestilliertes Wasser eingelegt. Über eine seitliche Öffnung wurde eine Kammer mit 0,9 ml frisch gewonnenem Serum oder Leberhomogenat beschickt, während die

Gegenseite mit 0,9 ml Sørensen-Phosphat-Puffer gefüllt wurde. Anschließend erfolgte die Dialyse in einem Wasserbad von 37°C über 16 Stunden. Die Umdrehungsgeschwindigkeit der Zellen betrug 45 U · min⁻¹. Am Ende der Dialysezeit wurde der Kammerinhalt in Eppendorf-Reaktionsgefäßen bis zur Analyse bei -24°C eingefroren.

Die Bestimmung des Phenprocoumongehaltes der proteinhaltigen Seite erfolgte nach der in 4.3 beschriebenen Methode. Der Gehalt im Puffer wurde wegen der niedrigen Konzentration (nach der Dialyse befanden sich aufgrund der hohen Serumproteinbindung von Phenprocoumon nur 0,2 - 1,0% der Gesamtmenge auf der Pufferseite) mit der folgenden Abwandlung bestimmt: 0,5 ml Puffer wurden mit 0,1 ml 3 N HCl gemischt und anschließend wie beschrieben weiterbehandelt.

Die Berechnung des freien Anteils ergibt sich als:

$$\text{Freier Anteil} = \frac{\text{Konzentration im Puffer}}{\text{Konz. im Puffer} + \text{Konz. im Protein}}$$

Alle Meßwerte wurden durch Zweifachdialysen bestimmt.

5. Versuchsauswertung

5.1 Pharmakokinetische Analyse

Die pharmakokinetischen Parameter und deren Berechnung sind im folgenden tabellarisch aufgeführt.

BEZEICHNUNG	SYMBOL	DIMENSION	ERMITTLUNG
Apparente Eliminationskonstante	k_{app}	Stunde ⁻¹	Steigung der Geraden einer graphischen Darstellung des natürlichen Logarithmus der Plasmakonzentration (Ordinate) gegen die Zeit (Abszisse). Bei Auftragung mit Zehnerlogarithmus erfolgt die Umrechnung mit: $k_{app} = \text{Steigung} \cdot \ln 10$
Extrapolierte Plasmakonzentration zum Zeitpunkt Null	c_p^0	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Die Steigung und c_p^0 wurden nach der Methode der kleinsten Quadrate bestimmt.
Fiktives Verteilungsvolumen	V_d	$\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$	$V_d = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{c_p^0}$
		oder	$V_d = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{\text{Fläche (g)}^a \cdot k_{app} \text{ (g)}^b}$
Fiktives Verteilungsvolumen des freien Anteils	$V_d \text{ frei}$	$\text{l} \cdot \text{kg}^{-1}$	$V_d \text{ frei} = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{c_p^0 \cdot f_s}$
		oder	$V_d \text{ frei} = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{\text{Fläche (f)}^a \cdot k_{app} \text{ (f)}^b}$

^a Fläche unter der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve von freiem Phenprocoumon (f) bzw. von Gesamtphenprocoumon (g), ermittelt durch numerische Integration nach der Trapezregel.

^b Apparente Eliminationskonstante von freiem Phenprocoumon $k_{app} \text{ (f)}$ bzw. von Gesamtphenprocoumon $k_{app} \text{ (g)}$

BEZEICHNUNG	SYMBOL	DIMENSION	ERMITTLUNG
Biologische Halbwertszeit	$t_{1/2}$	Stunden	$t_{1/2} = \ln 2 / k_{app}$
Plasmaclearance	Cl	ml · kg ⁻¹ · Stunde oder	$Cl = k_{app} \cdot V_d$ $Cl = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{\text{Fläche (g)}^a}$
Intrinsische Clearance (=hepatische metabolische Clearance)	Cl _{intr}	ml · kg ⁻¹ · Stunde oder	$Cl_{intr} = Cl / f_s^c$ $Cl_{intr} = \frac{\text{i.v. injizierte Dosis}}{\text{Fläche (f)}^b}$
Freier Anteil von Phenprocoumon im Körpergewebe	f _k	% der Gesamtkonzentration	$f_k = \frac{V_t \cdot f_s}{V_d - V_p}$ $V_t^d = \text{Volumen des Gesamtkörperwassers minus Volumen des Plasmawassers}$ $f_s = \text{Freier Anteil von Phenprocoumon im Serum in \% der Gesamtkonzentration}$ $V_p^d = \text{Volumen des Plasmawassers}$

^c Yacobi und Levy, 1975

^d Das Volumen des Gesamtkörperwassers der Ratte wird mit 660 ml · kg⁻¹, das Plasmavolumen mit 42 ml · kg⁻¹ angegeben (Gibaldi und McNamara, 1977)

BEZEICHNUNG	SYMBOL	DIMENSION	ERMITTLUNG
Freier Anteil von Phenprocoumon im Lebergewebe, errechnet	f_l	% der Gesamtkonzentration	$f_l^e = \frac{0,7 \cdot f_s \cdot c_s}{c_l}$
			f_s = Freier Anteil von Phenprocoumon im Serum in % der Gesamtkonzentration
			c_s = Gesamtkonzentration von Phenprocoumon im Serum
			c_l = Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber
Initiale Konzentration von Phenprocoumon in der Leber	A_{l^0}	mg	$A_{l^0} = \frac{w_l \cdot c_{l^0} \cdot c_l / c_p}{1000}$
			w_l = Lebergewicht in g
			c_{l^0} = extrapolierte Plasmakonzentration zum Zeitpunkt Null in $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$
			c_{l^0} / c_p = Leber/plasma-Konzentrationsverhältnis
Dosisanteil von Phenprocoumon in der Leber	F	1	$F^f = \frac{A_{l^0}}{A_{l^0}}$
			A_{l^0} = i.v. injizierte Dosis
Prothrombinkomplexaktivität	PCA	% der Norm	Aus der Prothrombinzeit anhand einer Eichkurve

e Levy et al., 1978

f Jähnchen und Levy, 1974

5.2 Statistische Auswertung

Die Abhängigkeit zwischen zwei Parametern wurde mittels des Korrelationskoeffizienten r anhand von Tabellen (Sachs, 1969) statistisch überprüft. Die Unterschiede zwischen zwei Regressionsgeraden wurden varianzanalytisch durch Vergleich der Regressionskoeffizienten beider Geraden nach Linder (1964) geprüft. Die Nullhypothese, d.h. keine Abhängigkeit, wurde abgelehnt, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,05 war. Die statistische Überprüfung der Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung erfolgte mit dem t-Test nach Student. War die Irrtumswahrscheinlichkeit größer als 0,05 wurden die Unterschiede als statistisch nicht signifikant (NS) angesehen. Bei Signifikanz wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit in den üblichen Stufen von 0,05, 0,01 oder 0,001 angegeben.

C. E R G E B N I S S E

1. Einfluß der Dosis auf die Pharmakokinetik und die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon

1.1 Einfluß auf die Eliminationskinetik und die Verteilungsvolumina

Tiere, die mit einer Dosis von $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon behandelt wurden, haben gegenüber Tieren, die $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ erhielten eine kürzere Halbwertszeit und ein um die Hälfte kleineres Verteilungsvolumen von Gesamt- und freiem Phenprocoumon.

Die Plasmaclearance ist in beiden Gruppen gleich. Die intrinsische Clearance hingegen ist nach Injektion von $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon deutlich geringer ($p < 0,001$). Der freie Anteil von Phenprocoumon im Serum ist in beiden Gruppen nicht unterschiedlich (Siehe 2.0), jedoch erhöht sich mit steigender Dosis der freie Anteil im Körpergewebe im Mittel auf das doppelte. Die Gesamtkonzentration im Plasma ist zwölf Stunden nach der Injektion rund 13-fach und die gemessene freie Konzentration 17-fach höher in Tieren, denen die hohe Dosis verabreicht wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle (1) zusammengefaßt.

Tabelle 1: Einfluß der Dosis auf die Eliminationskinetik von Phenprocoumon
(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, n = 12)

Parameter	Dosis	0,1 mg $\cdot$ kg ⁻¹	1,0 mg $\cdot$ kg ⁻¹	Quotient ^a	t-Test ^b
Biologische Halbwertszeit (Stunden)		29,1 $\pm$ 4,4	19,2 $\pm$ 3,0	0,66	p<0,001
Fiktives Verteilungsvolumen (ml $\cdot$ kg ⁻¹)		702 $\pm$ 387	367 $\pm$ 121	0,52	p<0,05
Verteilungsvolumen des freien Anteils (l $\cdot$ kg ⁻¹)		148 $\pm$ 26	65 $\pm$ 12	0,44	p<0,001
Plasmaclearance (ml $\cdot$ kg ⁻¹ $\cdot$ std ⁻¹)		18,2 $\pm$ 12,3	14,2 $\pm$ 7,0	0,78	NS
Intrinsische Clearance (ml $\cdot$ kg ⁻¹ $\cdot$ std ⁻¹)		3563 $\pm$ 642	2377 $\pm$ 406	0,67	p<0,001

^a Quotient der Mittelwerte von hoher Dosis durch Mittelwerte der niedrigen Dosis

^b Unterschiede zwischen Ratten, die mit niedriger bzw. hoher Dosis behandelt wurden

Tabelle 1: Fortsetzung
Einfluß der Dosis auf die Eliminationskinetik von Phenprocoumon
(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, n = 12)

Parameter	Dosis	$0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Quotient ^a	t-Test ^b
Freier Anteil im Serum, gemessen (% der Gesamtkonzentration)		$0,49 \pm 0,28$	$0,60 \pm 0,27$	1,22	NS
Freier Anteil im Körpergewebe, err. (% der Gesamtkonzentration)		$0,47 \pm 0,09$	$1,11 \pm 0,16$	2,36	$p < 0,001$
Gemessene Gesamtkonzentration, im Plasma, t=12 std ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)		$0,167 \pm 0,074$	$2,104 \pm 0,772$	12,60	$p < 0,001$
Gemessene freie Konzentration im Serum, t=12 std ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)		$0,646 \pm 0,126$	$10,79 \pm 1,51$	16,70	$p < 0,001$

^a Quotient der Mittelwerte von hoher Dosis durch Mittelwerte der niedrigen Dosis

^b Unterschiede zwischen Ratten, die mit niedriger bzw. hoher Dosis behandelt wurden

1.2 Einfluß auf die Verteilung zwischen Leber und Plasma

Die Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber ist bei den Tieren, die mit der hohen Dosis behandelt wurden, 8-fach höher als die der Tiere mit niedriger Dosierung ($p < 0,001$).

Signifikante Unterschiede zeigt auch das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis, das sich bei hoher Dosierung auf rund die Hälfte vermindert ($p < 0,05$).

Der gemessene freie Anteil von Phenprocoumon in der Leber ist hingegen dosisunabhängig und in beiden Gruppen im Mittel gleich.

Das Verhältnis Gesamtkonzentration in der Leber/freie Konzentration im Serum zeigt eine deutliche Abnahme mit steigender Dosis ($p < 0,001$). So ist der Wert bei den Tieren, die $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon erhielten, halb so groß wie bei der niedrigen Dosierung (Tabelle 2).

Tabelle 2: Einfluß der Dosis auf die Verteilung von Phenprocoumon zwischen Leber und Plasma (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)

Parameter	Dosis	0,1 mg $\cdot$ kg ⁻¹	1,0 mg $\cdot$ kg ⁻¹	Quotient ^a	t-Test ^b
Gesamtkonzentration in der Leber, t=12 std (μ g $\cdot$ g ⁻¹)		0,78 $\pm$ 0,08	6,27 $\pm$ 1,32	8,04	p<0,001
Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis (1)		5,80 $\pm$ 2,99	3,29 $\pm$ 1,10	0,57	p<0,01
Freier Anteil in der Leber, gemessenC (% der Gesamtkonz.)		5,50 $\pm$ 0,93	5,53 $\pm$ 1,34	1,01	NS
Gesamtkonz. in der Leber/ Freie Konzentration im Serum		1246 $\pm$ 287	584 $\pm$ 123	0,47	p<0,001

^a Quotient aus Mittelwert der hohen Dosis durch Mittelwert der niedrigen Dosis

^b Unterschiede zwischen Ratten, die mit niedriger bzw. hoher Dosis behandelt wurden

^c ermittelt durch Gleichgewichtsdialyse von Leberhomogenat (1:4(g/g) verdünnt)

1.3 Einfluß auf die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon

Als Maß für die gerinnungshemmende Wirksamkeit wurde die Fläche über der Prothrombinkomplexaktivität (PCA) vs. Zeit-Kurve ermittelt (Abbildung 1). Der Mittelwert dieser Flächen ist nach Behandlung mit der hohen Dosis 7,95 mal größer als nach Gabe von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon (Tabelle 3).

Tabelle 3: Einfluß der Dosis auf die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon
(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, n=12)

Parameter	Dosis $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
Fläche ^a (% der Norm $\cdot$ std)	$10,84 \pm 5,55$	$86,16 \pm 13,94^{b+c}$

^a Fläche über der PCA vs. Zeit-Kurve

^b Der Quotient aus Mittelwert der hohen Dosis durch Mittelwert der niedrigen Dosis beträgt 7,95

^c Unterschied zwischen Ratten, die mit niedriger bzw. hoher Dosis behandelt wurden, $P < 0,001$ nach t-Test

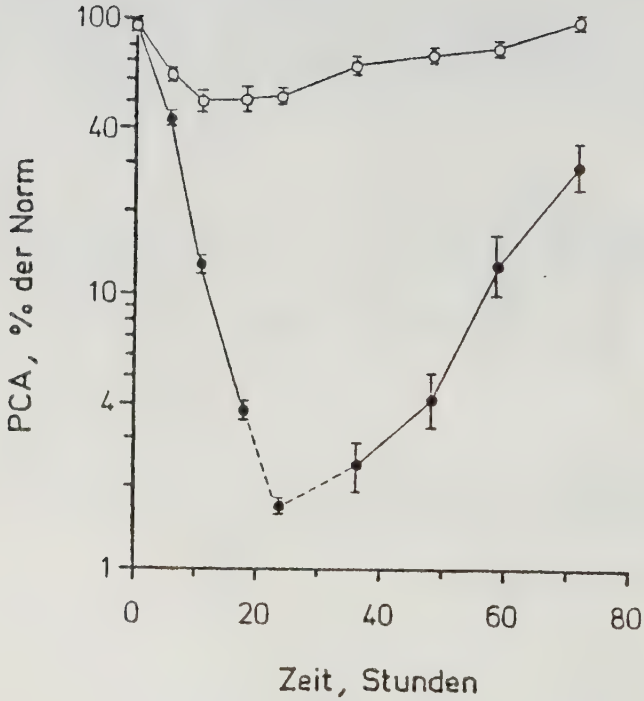


Abb.1: Zeitverlauf der Prothrombinkomplexaktivität (PCA) im Plasma von Ratten nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon. (Mittelwert $\pm$ Mittlerer Fehler des Mittelwertes, Anzahl der Tiere jeweils $n = 12$).

2. Einfluß der Serumproteinbindung auf Pharmakokinetik und gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon nach unterschiedlichen Dosen

Für die Versuche wurden Sprague-Dawley Ratten ausgewählt, die große interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der Serumproteinbindung aufweisen. Der freie Anteil im Serum lag bei den untersuchten Tieren, die mit der hohen Dosis behandelt wurden, zwischen 0,29 - 0,98% und bei den Tieren mit niedriger Dosierung zwischen 0,17 - 0,90%. Soweit es versuchstechnisch möglich war, wurden die Tiere so selektiert, daß in beiden Dosisgruppen gleich viele Tiere mit hoher und niedriger Serumproteinbindung vorkamen.

2.1 Einfluß auf die Eliminationskinetik und die Verteilungsvolumina

Die Eliminationskonstante k_{app} zeigt eine Abhängigkeit von der Serumproteinbindung. Je höher der freie Anteil von Phenprocoumon im Serum, desto größer wird k_{app} . Betrachtet man die Werte von niedriger und hoher Dosierung bei gleichem freien Anteil, so findet sich, daß die Eliminationskonstante k_{app} bei der Gruppe mit der niedrigen Dosis immer kleiner als bei der Gruppe mit der hohen Dosis ist (Abbildung 2). Daraus folgt, daß die biologische Halbwertszeit bei niedriger Dosierung jeweils länger als bei der hohen ist. Die Beziehung wird noch einmal in Abbildung 3 deutlich, bei der die Elimination von Phenprocoumon über 72 Std. an je zwei Tieren mit hoher und niedriger Proteinbindung dargestellt ist. Die stärkere Neigung der Regressionsgeraden bei $f_s = 0,9$ bzw. 0,98% ist das graphische Korrelat der erwähnten Beziehung von kürzerer Halbwertszeit mit höherem freien Anteil im Serum.

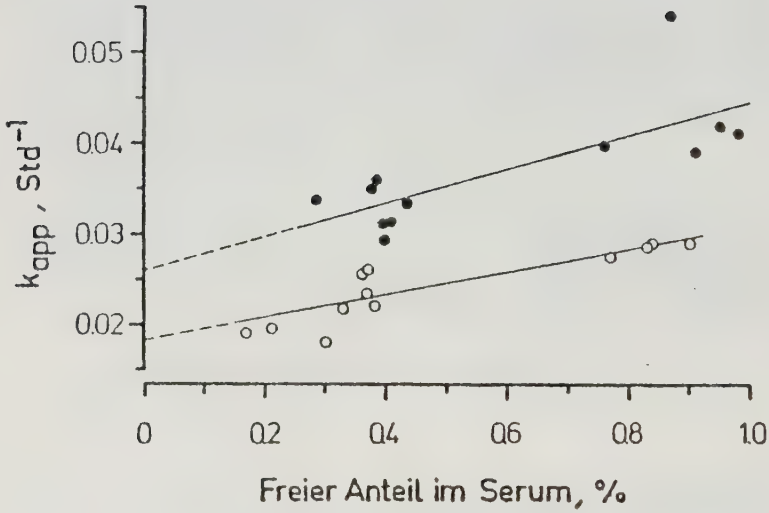


Abb. 2: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der apparenten Eliminationskonstanten (k_{app}) von Phenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = 0,913$, $p < 0,001$ (o); $r = 0,758$, $p < 0,001$ (●); Anzahl der Tiere jeweils $n = 12$).

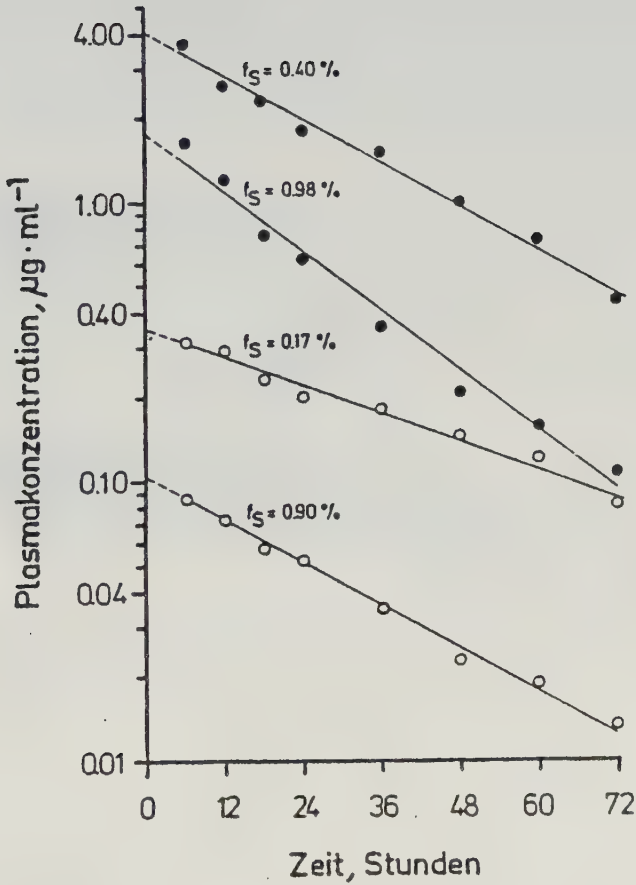


Abb. 3: Zeitverlauf der Plasmakonzentration von Gesamtphenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon bei Tieren mit niedriger und hoher Serumproteinbindung (f_s =freier Anteil von Phenprocoumon im Serum); Anzahl der Tiere, $n = 4$.

Tiere die mit der niedrigen Dosis behandelt wurden, haben gegenüber den Tieren, die die hohe Dosis erhielten, ein größeres Verteilungsvolumen; vorausgesetzt man betrachtet Tiere mit gleichem freien Anteil. Wie Abbildung 4, zeigt überlappen sich die Werte beider Gruppen mit einem Verteilungsvolumen von 320 bis 1332 ml bei der niedrigen Dosis mit denen der hohen Dosis bei Werten von 249 bis 551 ml.

Parameter, die von der Serumproteinbindung abhängig sind, weisen eine große Standardabweichung bei der Berechnung des arithmetischen Mittels auf. Die hohe Standardabweichung läßt bei alleinigem Vergleich der Mittelwerte wie unter 1.1 dosisabhängige Unterschiede nicht klar erkennen. So wurde in Tabelle (1) für die Plasmaclearance kein Unterschied zwischen den Mittelwerten der hohen und niedrigen Dosis festgestellt. Abbildung 5 zeigt die dosisabhängige Beziehung und die Abhängigkeit vom freien Anteil im Serum ($r=0,97$ bzw. $r=0,92$, $p<0,001$ für beide Dosisgruppen). Mit steigendem freien Anteil erhöht sich die Plasmaclearance; bei den Tieren, die mit der niedrigen Dosis behandelt wurden jeweils stärker als bei der Gruppe mit der hohen Dosis.

Die intrinsische Clearance (Abbildung 6) ist unabhängig vom freien Anteil im Serum ($r=0,56$ bzw. $r=0,01$, NS für beide Dosisgruppen). Bei den Tieren, die eine Dosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon erhielten, sieht man eine Tendenz von steigender intrinsischer Clearance mit erhöhtem freien Anteil.

Das Verteilungsvolumen des nicht gebundenen Phenprocoumons nimmt bei der Gruppe, die die hohe Dosis erhielt, mit zunehmendem freien Anteil ab. ($r=0,765$, $p<0,01$). Bei den Tieren, die die niedrige Dosis erhielten, besteht keine Abhängigkeit (Abb.7)

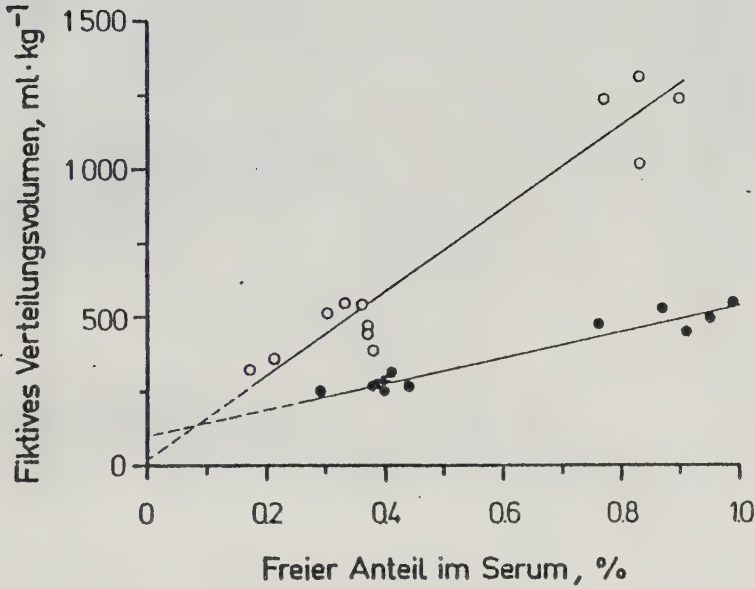


Abb. 4: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und dem fiktiven Verteilungsvolumen von Phenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r=0,962$, $p<0,001$ (○); $r=0,963$, $p<0,001$ (●); Anzahl der Tiere jeweils $n=12$).

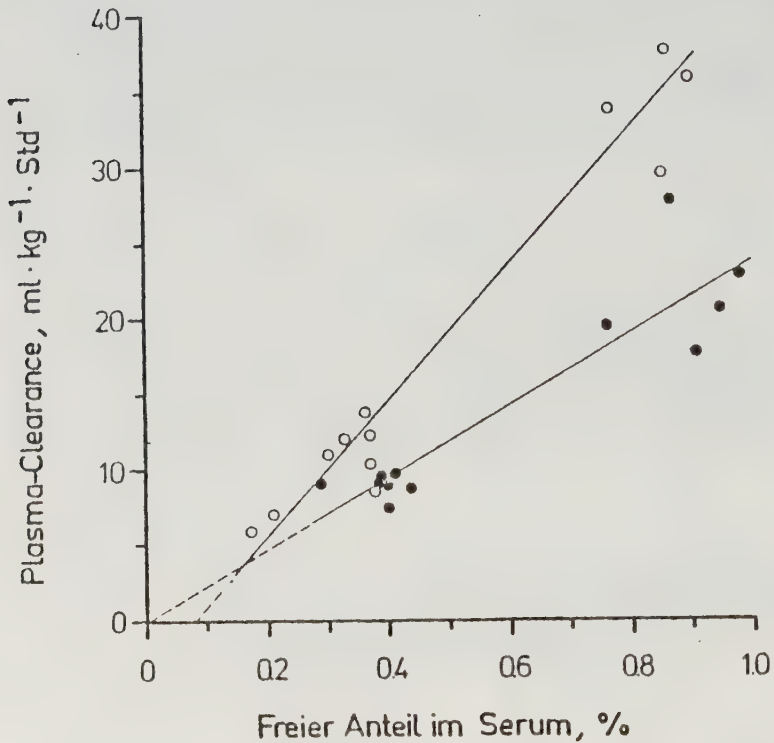


Abb. 5: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der Plasmaclearance von Phenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = 0,972$, $p < 0,001$ (○); $r = 0,918$, $p < 0,001$ (●); Anzahl der Tiere jeweils $n = 12$).

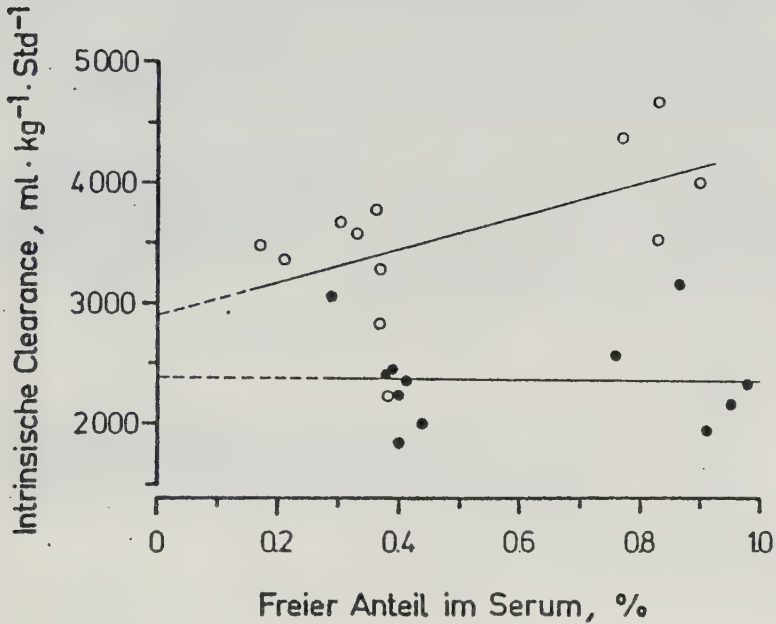


Abb. 6: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der intrinsischen Clearance von Phenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = 0,565$, NS (o); $r = -0,01$, NS (●); Anzahl der Tiere, $n = 12$).

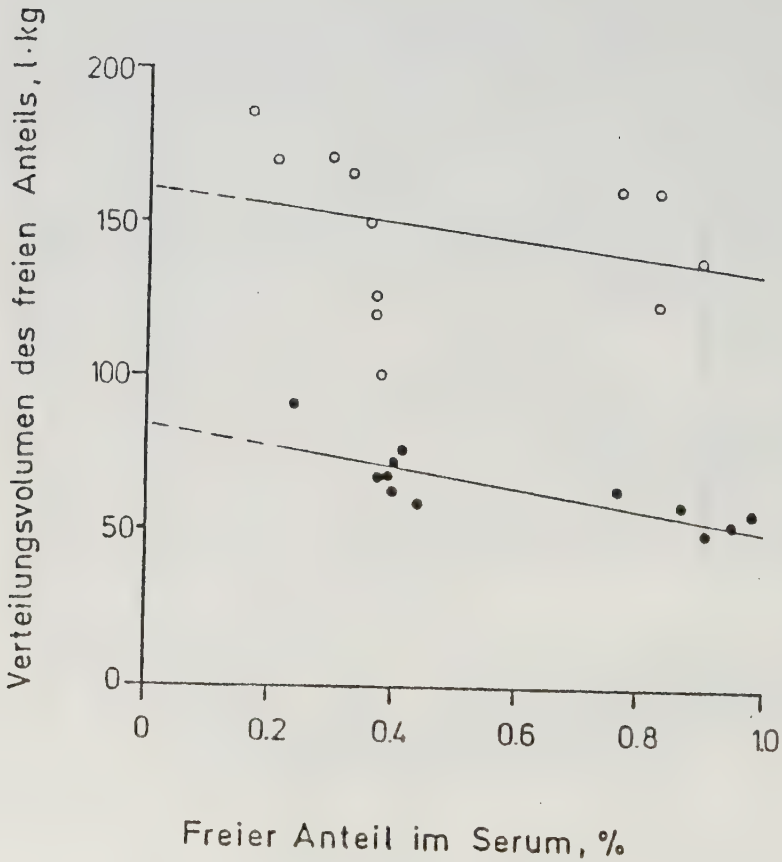


Abb. 7: Beziehung zwischen dem freien Anteil von Phenprocoumon im Serum und dem Verteilungsvolumen des freien Anteils nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = -0,272$, NS (o); $r = -0,765$, $p < 0,01$ (●); Anzahl der Tiere jeweils $n = 12$).

Abschließend ist der Zusammenhang zwischen der Gesamtkonzentration von Phenprocoumon im Plasma mit dem freien Anteil dargestellt (Abb. 8). Je höher der ungebundene Anteil von Phenprocoumon im Serum desto mehr fällt die Gesamtkonzentration im Plasma ($p < 0,001$ für beide Gruppen).

2.2 Einfluß auf die Verteilung zwischen Leber und Plasma

Die Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber ist bei beiden Dosisgruppen unabhängig vom freien Anteil von Phenprocoumon im Serum (Abbildung 9). Das gleiche gilt für den gemessenen freien Anteil von Phenprocoumon in der Leber, der ebenfalls unabhängig von der Serumproteinbindung ist.

Dagegen zeigen das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis und das Verhältnis von Gesamtkonzentration in der Leber/Freie Konzentration im Serum eine Korrelation mit dem freien Anteil im Serum. Das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis erhöht sich mit steigendem freien Anteil im Serum (Abb. 10). Bei den Tieren, die die niedrige Dosis erhielten, ist das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis rund doppelt so hoch als das der Tiere, die mit der hohen Dosis behandelt wurden, falls man Tiere mit derselben Serumproteinbindung vergleicht ($r = 0,93$, $p < 0,001$, für beide Dosisgruppen).

Eine umgekehrte Beziehung besteht zwischen dem Verhältnis Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber/Freie Konzentration im Serum und der Serumproteinbindung ($p < 0,01$ für beide Dosen). Das Verhältnis nimmt mit steigendem freien Anteil im Serum ab und ist bei den Tieren, denen $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon injiziert wurde rund doppelt so groß wie bei der Gruppe, die $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ erhielt (Abb. 11).

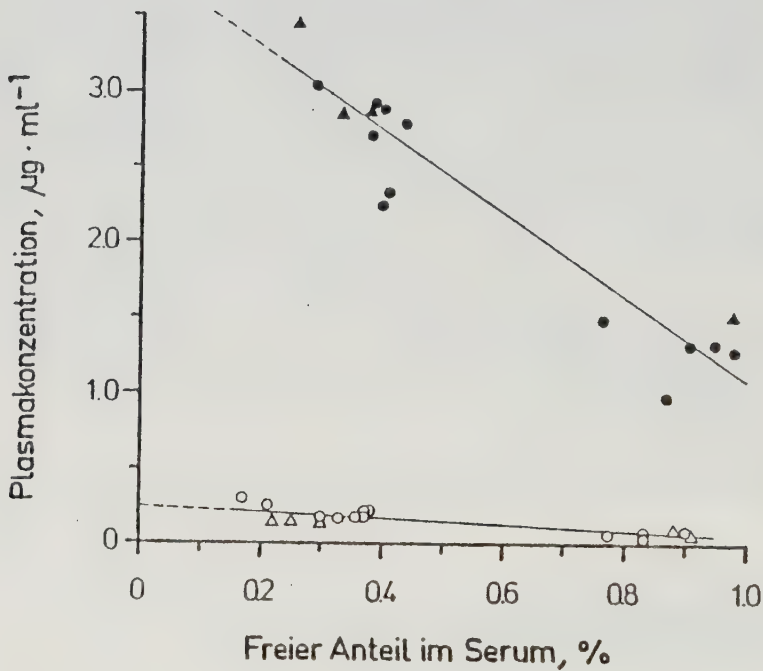


Abb. 8: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der Plasmakonzentration von Gesamtphenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (•) Phenprocoumon. Die dreieckigen Symbole bezeichnen Werte aus Vorversuchen ($r = -0,781$, $p < 0,001$, $n = 17$ (o, Δ); $r = -0,946$, $p < 0,001$, $n = 16$ (•, Δ); n = Anzahl der Tiere).

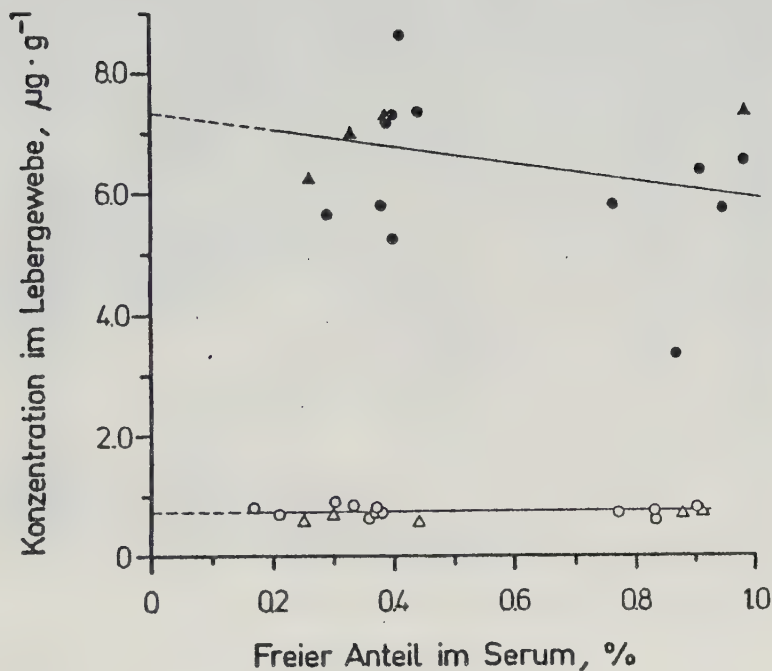


Abb. 9: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der Gesamtkonzentration von Phenprocoumon im Lebergewebe nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o, Δ) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($\bullet$, $\blacktriangle$) Phenprocoumon. Die dreieckigen Symbole bezeichnen Werte aus Vorversuchen ($r = 0,120$, NS, $n = 17$ (o, Δ); $r = -0,265$, NS, $n = 16$ ($\bullet$, $\blacktriangle$); n = Anzahl der Tiere).

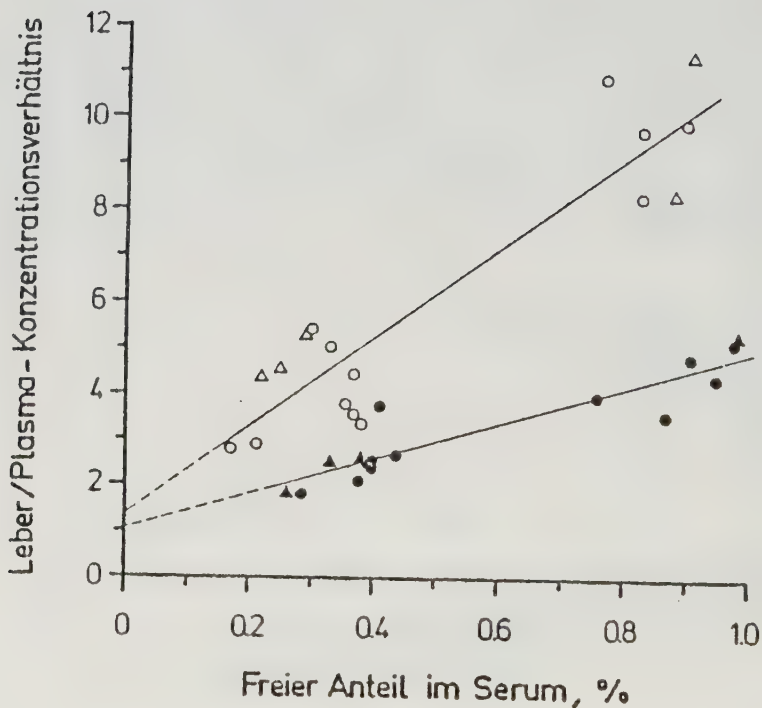


Abb. 10: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und dem Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis von Phenprocoumon nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○, △) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●, ▲) Phenprocoumon. Die dreieckigen Symbole bezeichnen Werte aus Vorversuchen ($r = 0,925$, $p < 0,001$, $n = 17$ (○, △); $r = 0,930$, $p < 0,001$, $n = 16$ (●, ▲); n = Anzahl der Tiere).

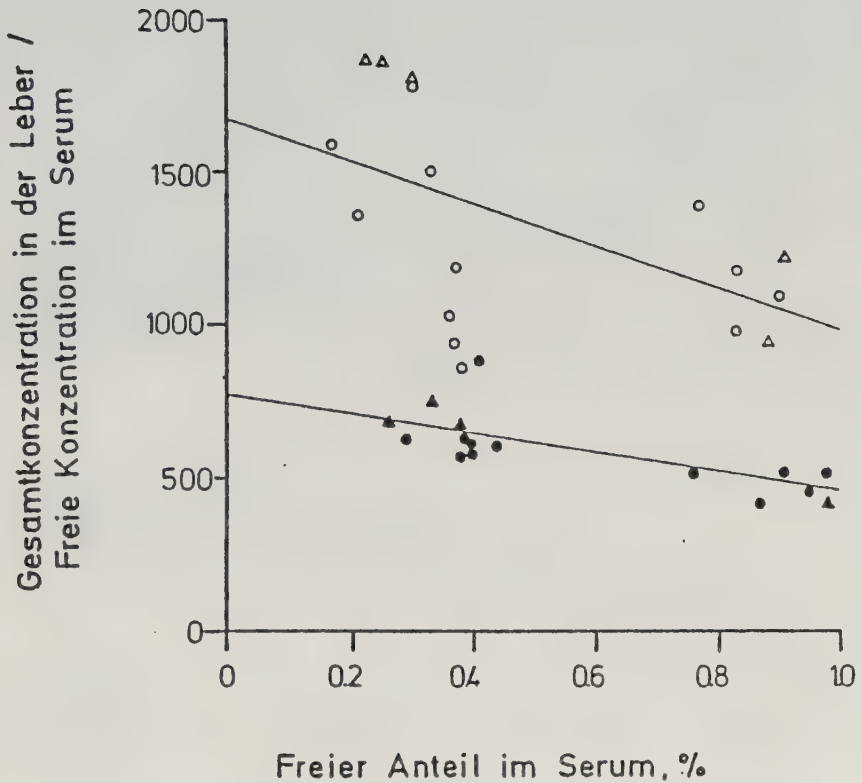


Abb. 11: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber/Freie Konzentration im Serum nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○, △) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●, ▲) Phenprocoumon. Die dreieckigen Symbole bezeichnen Werte aus Vorversuchen ($r = -0,544$, $p < 0,01$, $n = 17$ (○, △); $r = -0,723$, $p < 0,01$, $n = 16$ (●, ▲); n = Anzahl der Tiere).

Zwischen Gewebsproteinbindung und Serumproteinbindung wurde für die Tiere, die die hohe Dosis erhielten, eine Abhängigkeit festgestellt. So nimmt der freie Anteil im Körpergewebe mit steigendem freien Anteil im Serum zu ($p < 0,05$). Bei der Gruppe mit der niedrigen Dosis besteht keine Abhängigkeit zwischen der Bindung im Serum und Gewebe (Abb. 12). Die graphische Darstellung von freiem Anteil im Serum gegen die freie Serumkonzentration zeigt das gleiche Verhalten, nämlich eine positiv lineare Korrelation für Tiere, die $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon erhielten ($p < 0,05$) und keine signifikante Beziehung zwischen den Parametern der Tiere, denen die niedrige Dosis verabreicht wurde (Abb. 13).

2.3 Einfluß auf die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon

Die Fläche unter der Prothrombinkomplexaktivität (PCA) vs. Zeit-Kurve ist ein Maß für die gerinnungshemmende Wirksamkeit von Phenprocoumon. Bei der Auftragung dieser Flächen gegen den freien Anteil im Serum ergibt sich bei der Gruppe, die die hohe Dosis erhielt, eine signifikante Beziehung ($r = -0,799$, $p < 0,01$). Für diese Tiere unterscheiden sich die Flächen maximal 1,55-fach und werden mit steigendem freien Anteil im Serum kleiner (Abb. 14). Die Flächen von den Tieren, die mit der niedrigen Dosis behandelt wurden, sind unabhängig vom freien Anteil ($r = 0,466$, NS).

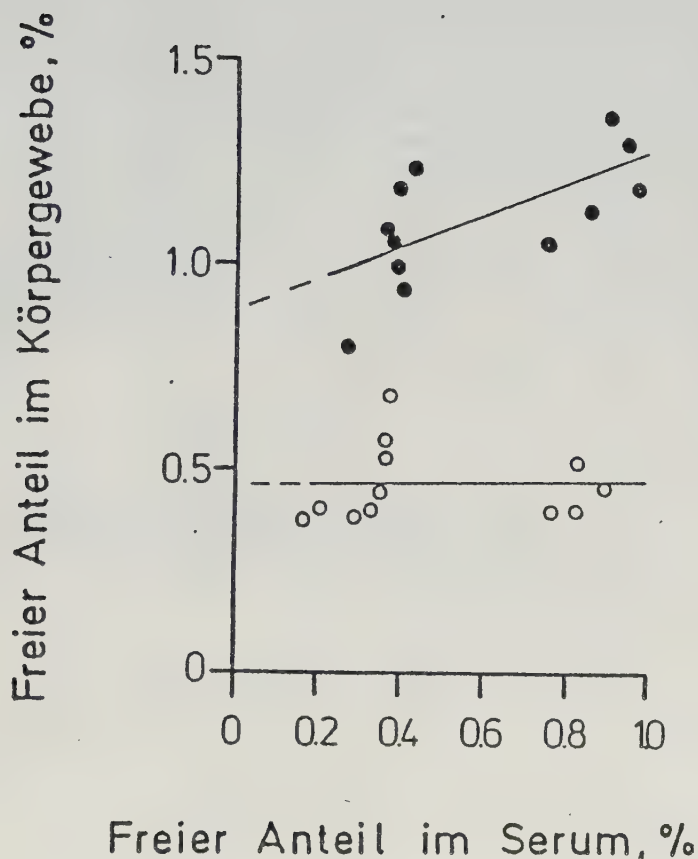


Abb. 12: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und dem freien Anteil von Phenprocoumon im Körpergewebe nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = 0,005$, NS (o); $r = 0,644$, $p < 0,05$ (●); Anzahl der Tiere, $n = 12$).

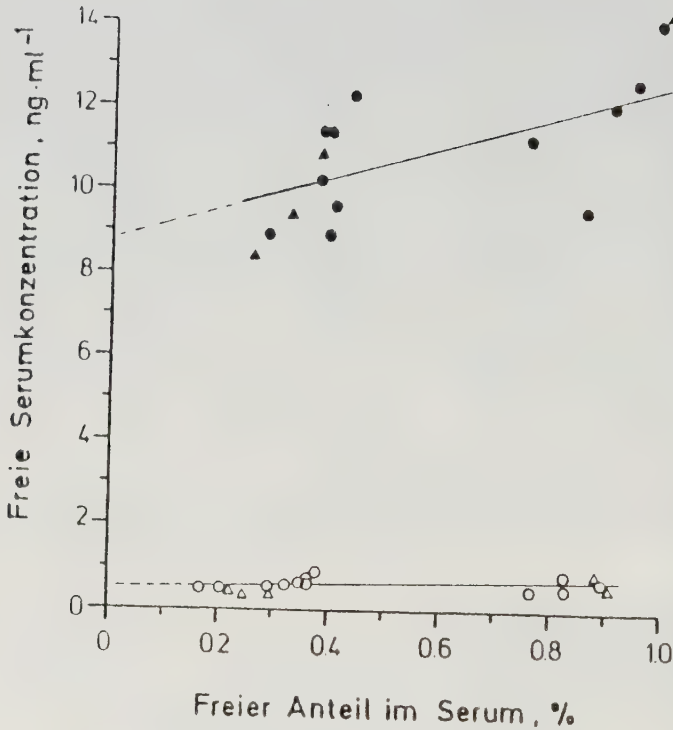


Abb. 13: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der freien Konzentration von Phenprocoumon im Serum nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (○, △) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●, ▲) Phenprocoumon. Die dreieckigen Symbole bezeichnen Werte aus Vorversuchen ($r = 0,418$, NS, $n = 17$ (○, △); $r = 0,610$, $p < 0,05$, $n = 16$ (●, ▲); n = Anzahl der Tiere).

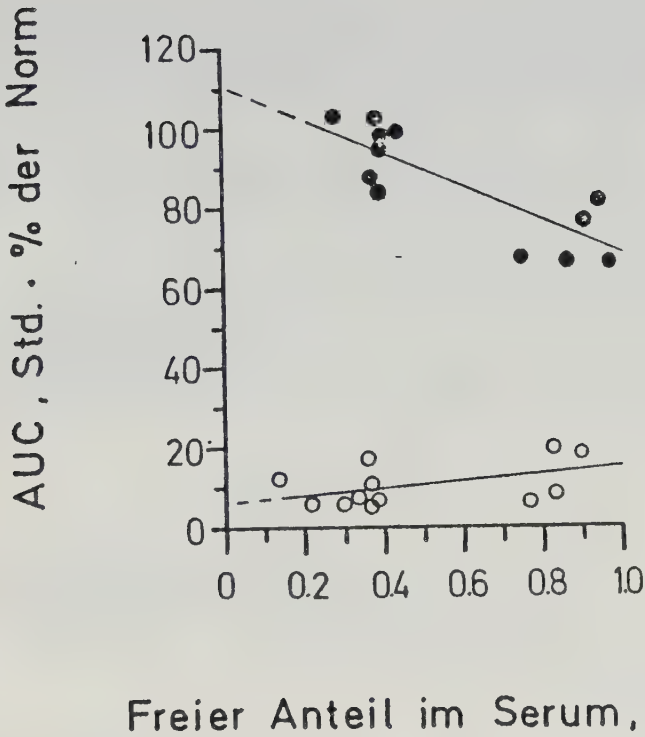


Abb. 14: Beziehung zwischen dem freien Anteil im Serum und der Fläche über der PCA vs. Zeit-Kurve nach intravenöser Injektion einer Einzeldosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o) bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (●) Phenprocoumon ($r = 0,442$, NS (o); $r = -0,831$, $p < 0,01$ (●); Anzahl der Tiere jeweils $n = 12$).

D. D I S K U S S I O N

Der Einfluß der Dosis auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon

Die Ergebnisse zeigen, daß die Pharmakokinetik von Phenprocoumon dosisabhängig ist. Die Mittelwerte der beiden Behandlungsgruppen unterscheiden sich hinsichtlich der Eliminationsgeschwindigkeit und der Verteilung von Phenprocoumon im Organismus (Tab. 1+2). Die totale Clearance (Cl) ist dagegen im Mittel nicht signifikant unterschiedlich. Das erklärt sich durch die Beziehung:

$$Cl = V_d \cdot k_{app} \quad (1)$$

Da das Verteilungsvolumen (V_d) bei der Gruppe mit der hohen Dosierung abnimmt, die Eliminationskonstante (k_{app}) aber zunimmt, ergeben sich für die totale Clearance keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Dosierungen. Die Abnahme des Verteilungsvolumens mit steigender Dosis reflektiert eine zu sättigende Gewebsbindung. So nimmt der freie Anteil von Phenprocoumon im Körpergewebe deutlich zu (Tab. 1) und das Verteilungsvolumen, basierend auf dem freien Anteil (Tab. 1), nimmt ab. Letzteres ist Ausdruck einer gehemmten Redistribution der freien Konzentration im Plasma bei Erhöhung der Dosis. Eine solche Hemmung der Redistribution von freiem Phenprocoumon ist zu erwarten, wenn die Gewebsproteinbindung zu sättigen ist und freies Arzneimittel im Gewebe kumuliert (Schmidt und Jähnchen, 1979).

Für die Leber konnte die dosisabhängige, sättigbare Gewebeaufnahme von Phenprocoumon direkt nachgewiesen werden. Mit steigender Dosis nahm das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis und der Quotient aus Gesamt-

konzentration in der Leber und freier Konzentration im Plasma ab. Letzteres ist beweisend für einen sättigbaren hepatischen Aufnahmemechanismus (Takada und Levy, 1979). Die intrinsische Clearance, als Maß für die metabolische Kapazität der Leber, zeigt ebenfalls eine signifikante Abnahme bei den Tieren, die die hohe Dosis erhielten (Tab. 1+2).

Somit ist die dosisabhängige Pharmakokinetik von Phenprocoumon nicht allein das Resultat einer sättigbaren Aufnahme in das Gewebe, sondern reflektiert auch eine sättigbare Biotransformation dieses Pharmakons.

Untersuchungen mit Warfarin ergaben, daß auch dieses Cumarinderivat eine dosisabhängige Pharmakokinetik aufweist. In gleicher Weise wie für Phenprocoumon nimmt das Verteilungsvolumen und die intrinsische Clearance mit steigender Dosis ab (Takada und Levy, 1980). Im Gegensatz zu Phenprocoumon nimmt bei der hohen Dosis auch die totale Clearance ab. Entsprechend der Formel (1) kommt diese Reduktion der Clearance von Warfarin mit steigender Dosis in erster Linie durch eine Abnahme des Verteilungsvolumens zustande, während sich die Eliminationskonstante k_{app} von Warfarin im Gegensatz zu Phenprocoumon nicht dosisabhängig ändert. Da die Eliminationskonstante sowohl eine Funktion der Gewebsproteinbindung (f_k) als auch eine Funktion der intrinsischen Clearance (Cl_{intr}) ist (Gibaldi et al. , 1978)

$$k_{app} \approx \frac{f_k \cdot Cl_{intr}}{V_t} \quad (2)$$

(V_t ist eine Konstante, Erklärung siehe unter 5.1, S.11), wird für Warfarin die dosisunabhängige Eliminationskonstante mit einer entgegengesetzten Änderung des freien Anteils im Körpergewebe f_k und der intrinsischen Clearance erklärt, d.h. der freie Anteil nimmt bei hoher Dosis im Vergleich zur niedrigen Dosis zu und die

intrinsische Clearance ab, so daß die Eliminationskonstante unbeeinflusst bleibt. Im Gegensatz dazu nimmt für Phenprocoumon der freie Anteil im Körpergewebe nach der hohen Dosis stärker zu als die intrinsische Clearance abnimmt (Tab. 1), so daß insgesamt eine Zunahme von k_{app} resultiert.

Die Verteilung von Warfarin zwischen Leber und Plasma zeigt noch deutlichere dosisabhängige Unterschiede als die von Phenprocoumon. So nimmt die Gesamtkonzentration von Warfarin im Plasma bei Erhöhung der Dosis von 0,1 auf $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ etwa 46- fach zu, während die Gesamtkonzentration in der Leber nur 3- fach höher wird (Takada und Levy, 1979). Bei Phenprocoumon nimmt dagegen die Gesamtkonzentration im Plasma bei Dosiserhöhung um das 12- fache zu und die Leberkonzentration etwa 8- fach (Tab. 1+2). Daraus folgt, daß das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis bei beiden Arzneistoffen mit steigender Dosis abnimmt, bei Warfarin von $11,3 \pm 1,7$ auf $0,814 \pm 0,22$ und bei Phenprocoumon von $5,80 \pm 2,99$ auf $3,29 \pm 1,10$. Gleichsinnig ändert sich das Verhältnis von Gesamtkonzentration in der Leber/Freie Konzentration im Serum, wobei dieses Verhältnis für Warfarin mit steigender Dosis von 866 ± 105 auf 111 ± 42 abnimmt und bei Phenprocoumon von 1246 ± 287 auf 584 ± 123 . Das bedeutet, daß die hepatische Aufnahme für Warfarin mit steigender Dosis stärker reduziert wird als für Phenprocoumon. Möglicherweise ist die Bindungskapazität der Leber für Warfarin geringer und eher zu sättigen als für Phenprocoumon.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Pharmakokinetik von Phenprocoumon dosisabhängig ist. Durch eine zu sättigende Gewebsproteinbindung nimmt mit steigender Dosis das Verteilungsvolumen ab. Außerdem kommt es mit zunehmender Dosis zu einer Sättigung der abbauenden Enzyme in der Leber und somit zu einer Reduktion der intrinsischen Clearance.

Der Einfluß der Serumproteinbindung auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon nach unterschiedlichen Dosen

Die Mittelwerte der pharmakokinetischen Parameter beider Behandlungsgruppen weisen eine große Standardabweichung auf (Tab. 1). Demzufolge müssen zwischen den Tieren beträchtliche interindividuelle Unterschiede in diesen Parametern vorhanden sein. Ein wesentlicher Faktor für die interindividuellen Unterschiede in der Eliminationskinetik und Verteilung von Warfarin (Levy und Yacobi, 1974) und Phenprocoumon (Trenk und Jähnchen, 1980) ist die Serumproteinbindung. Daher wurde untersucht, inwieweit die pharmakokinetischen Parameter innerhalb der beiden Behandlungsgruppen von der Serumproteinbindung abhängig sind.

Die Ergebnisse zeigen, daß mit Ausnahme der intrinsischen Clearance (Abb. 6), sowohl die Plasmaclearance (Abb. 5), als auch die Eliminationskonstante (Abb. 2), das Verteilungsvolumen (Abb. 4) und das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis (Abb. 10) abhängig von der Serumproteinbindung sind und mit steigendem freien Anteil in beiden Gruppen zunehmen.

Die Gesamtkonzentration von Phenprocoumon im Plasma und das Verhältnis Gesamtkonzentration in der Leber/Freie Konzentration im Serum sind ebenfalls von der Serumproteinbindung abhängig, nehmen aber mit steigendem freien Anteil im Serum ab (Abb. 8, 11).

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit theoretischen Konzepten, die für Arzneistoffe entwickelt wurden, die eine hohe Plasmaproteinbindung aufweisen, durch Metabolismus eliminiert werden und deren Plasmaclearance erheblich geringer ist als die Blutflußgeschwindigkeit der Leber (Levy und Yacobi, 1974; Wilkinson und Shand, 1975).

Phenprocoumon gehört zu dieser Gruppe, da es nahezu ausschließlich in der Leber metabolisiert wird und die Plasmaclearance in den vorliegenden Ergebnissen immer kleiner als $40 \text{ ml} \cdot \text{std}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ist und damit deutlich unter der Leberdurchblutung von rund $3000 \text{ ml} \cdot \text{std}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ liegt (Roth und Rubin, 1976). Der limitierende Faktor der Elimination ist für solche Pharmaka nicht die Leberdurchblutung, sondern der freie Anteil im Serum (Levy, 1976).

Die Abhängigkeit der Plasmaclearance (Cl) vom freien Anteil im Serum (f_s) wird durch die Beziehung:

$$Cl = Cl_{\text{intr}} \cdot f_s \quad (3)$$

erklärt (Levy und Yacobi, 1974). Demzufolge ist eine graphische Darstellung, in der Cl gegen f_s aufgetragen wird, eine Gerade, die durch den Nullpunkt des Koordinatensystems geht und deren Steigung die intrinsische Clearance angibt. Diesen Zusammenhang zeigt Abbildung 5 für die hohe und die niedrige Dosis. Da die intrinsische Clearance dosisabhängig ist, resultieren auch zwei dosisabhängige Regressionsgeraden. Ein steilerer Anstieg der Regressionsgeraden - und somit eine höhere intrinsische Clearance - ergibt sich für diejenigen Tiere, die mit der niedrigen Dosis behandelt wurden ($p < 0,001$). Bei gleicher Dosis ist dagegen die intrinsische Clearance erwartungsgemäß weitgehend unabhängig von der Serumproteinbindung (Abb. 6). Da die Unterschiede in der Plasmaclearance in erster Linie eine Funktion der interindividuell unterschiedlichen Serumproteinbindung sind und der Einfluß der Dosis auf die Plasmaclearance geringer ist als der Einfluß der Serumproteinbindung, waren beim Vergleich der Mittelwerte beider Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Plasmaclearance nachweisbar (Tab. 1).

Auch das Verteilungsvolumen ist für beide Dosierungen eine lineare Funktion der Serumproteinbindung (Abb. 4). Jedoch nimmt bei der niedrigen Dosis das Verteilungsvolumen stärker zu als nach der hohen Dosis. Der steilere Anstieg dieser Beziehung nach der niedrigen Dosis ist in erster Linie eine Folge der interindividuell unterschiedlichen Serumproteinbindung bei relativ konstanter Gewebsproteinbindung (Abb. 12), während sich nach der hohen Dosis Serumproteinbindung und Gewebsbindung gleichsinnig ändern. Hieraus resultiert eine geringere Zunahme des Verteilungsvolumens nach der hohen Dosis (Gibaldi und McNamara, 1978; McNamara et al., 1979; Øie et al., 1980).

Die offenbar sättigbare Gewebsbindung nach der hohen Dosis hat zur Folge, daß mit steigendem freien Anteil im Serum die Redistribution des freien Arzneimittels zunehmend gehemmt wird. Das wird sichtbar an der Abnahme des Verteilungsvolumens von freiem Arzneimittel mit zunehmendem freien Anteil im Serum (Abb. 7). Dagegen ist für die niedrige Dosis, bei der die Gewebsproteinbindung noch nicht gesättigt ist, eine solche Beziehung zwischen dem Verteilungsvolumen des freien Anteils und der Serumproteinbindung nicht nachweisbar (Abb. 7).

Mit steigendem freien Anteil im Serum nimmt für beide Dosierungen das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis zu (Abb. 10). Auch hier war die Zunahme für die hohe Dosis geringer als für die niedrige Dosis (Abb. 10). In Analogie zum Verteilungsvolumen scheint nach der hohen Dosis der hepatische Aufnahmemechanismus stärker gesättigt zu sein als nach der niedrigen Dosis, und eine Änderung des freien Anteils im Serum geht im Falle der hohen Dosis mit einer geringeren hepatischen Aufnahme einher als nach der niedrigen Dosis. Das wird am ausgeprägteren Abfall des Quotienten aus der Gesamtkon-

zentration in der Leber und freier Konzentration im Serum nach der niedrigen Dosis sichtbar (Abb. 11). Da der Anstieg des Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnisses eine Folge der stärkeren Änderung der Serumproteinbindung im Vergleich zur Gewebsproteinbindung ist (Trenk und Jähnchen, 1980), darf gefolgert werden, daß sich im Falle der hohen Dosis der freie Anteil in der Leber mit zunehmendem freien Anteil im Serum stärker ändert als nach der niedrigen Dosis. Eine solche simultane Änderung von freiem Anteil im Serum und in der Leber ist zu erwarten, wenn die Gewebsproteinbindung gesättigt ist.

Die Ergebnisse zeigen weiterhin, daß die Zunahme des Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnisses mit steigendem freien Anteil im Serum durch eine Abnahme der Plasmakonzentration bedingt ist (Abb. 8), wobei die Gesamtkonzentration in der Leber weitgehend unabhängig vom freien Anteil im Serum ist (Abb. 9). Offenbar ist dieser Befund durch eine Zunahme der Eliminationskonstanten k_{app} mit steigender Dosis zu erklären. Da nach (2) k_{app} eine Funktion des freien Anteils im Gewebe (f_k) ist:

$$k_{app} \approx f_k \cdot Cl_{intr}/V_t \quad (\text{Gibaldi et al., 1978})$$

sollte im Falle der hohen Dosis, bei der eine nicht-lineare Gewebsproteinbindung vorliegt, f_k mehr zunehmen als die intrinsische Clearance (Cl_{intr}) abnimmt. Die Hemmung der Redistribution von freiem Arzneimittel nach der hohen Dosis hat weiterhin zur Folge, daß hier die freie Konzentration im Serum mit steigendem freien Anteil geringgradig zunimmt, wohingegen nach der niedrigen Dosis eine solche Abhängigkeit nicht nachweisbar ist (Abb. 13).

Der Einfluß der Dosis und der Serumproteinbindung auf den gerinnungshemmenden Effekt von Phenprocoumon

Der gerinnungshemmende Effekt pro verabreichter Dosis wurde anhand der Fläche unter der Prothrombinkomplexaktivität vs. Zeit-Kurve quantifiziert. Nach Erhöhung der Dosis nahm dementsprechend diese Fläche zu. Jedoch hatte eine 10-fache Erhöhung der Dosis keine ebenso große Änderung dieser Fläche zur Folge, sondern nur eine 8-fache Zunahme. Diese weniger als proportionale Zunahme der Wirksamkeit ist möglicherweise mit der dosisabhängigen Verringerung der hepatischen Aufnahme von Phenprocoumon zu erklären. So nahm die Gesamtkonzentration von Phenprocoumon in der Leber bei 10-facher Dosiserhöhung auch etwa 8-fach zu. Da der freie Anteil in der Leber dosisunabhängig war (Tab. 2), dürfte auch die freie Konzentration in der Leber rund 8-fach zugenommen haben. Für die niedrige Dosis ($0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ergab sich kein Zusammenhang zwischen der Fläche und dem freien Anteil von Phenprocoumon im Serum. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen, nach denen eine Ab- oder Zunahme der Serumproteinbindung mit keiner Änderung in der Wirksamkeit verbunden ist (Trenk und Jähnchen, 1980). Die Erklärung hierfür ist, daß ein Anstieg des freien Anteils im Serum durch eine entsprechende Zunahme der totalen Clearance (vgl. Beziehung 3) kompensiert wird und dementsprechend die freie Konzentration im Serum, die für die Wirksamkeit entscheidend ist, unbeeinflusst bleibt (Abb. 13). Für die hohe Dosis ($1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) scheint die Wirksamkeit pro Dosis mit zunehmendem freien Anteil sogar abzunehmen (Abb. 14).

Offenbar wird hier mit steigendem freien Anteil die Aufnahme von Phenprocoumon in die Leber (Abb. 11) und auch in die übrigen Körpergewebe (Abb. 7) schneller und vollständiger gesättigt als bei niedriger Dosis, und die freie Konzentration im Serum spiegelt unter diesen Bedingungen nicht die freie Konzentration am Wirkort wieder.

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die vorliegenden Untersuchungen an Ratten sollten klären, ob die pharmakokinetischen Parameter von Phenprocoumon in einem pharmakologisch realistischen Konzentrationsbereich dosisabhängig sind. Besondere Beachtung wurde hierbei der Verteilung von Phenprocoumon zwischen Leber (diese ist zugleich Wirkort und Ort des Metabolismus für Phenprocoumon) und Plasma geschenkt, sowie dem Einfluß der Serumproteinbindung auf die Pharmakokinetik und die gerinnungshemmende Wirksamkeit dieses Pharmakons. Zu diesem Zweck erhielten je 12 männliche Sprague-Dawley Ratten mit genetisch bedingten Unterschieden in der Serumproteinbindung eine intravenöse Dosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ bzw. $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon. Die zwei Gruppen von je 12 Tieren waren entsprechend ihrer Serumproteinbindung von Phenprocoumon selektiert, so daß beide Gruppen einen freien Anteil von Phenprocoumon im Serum zwischen 0,2 und 1,0 % aufwiesen. Nach der Injektion von Phenprocoumon wurden über 72 Stunden Blutproben aus der Schwanzarterie entnommen. Vier Wochen später erhielten die Tiere nochmals die gleiche Dosis von Phenprocoumon, und sie wurden 12 Stunden nach der Injektion durch Entbluten aus der Baucharterie getötet. Es wurden die Konzentration von Phenprocoumon im Serum, die Serumproteinbindung, die Konzentration in der Leber und die Prothrombinzeit gemessen.

Die Ergebnisse zeigten, daß die Pharmakokinetik von Phenprocoumon in Ratten dosisabhängig ist. Im Vergleich zu der niedrigen Dosis von $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ war nach Verabreichung der Dosis von $1,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Phenprocoumon die biologische Halbwertszeit kürzer und das Verteilungsvolumen von Gesamt- und freiem Phenprocoumon geringer. Die totale Clearance war in beiden Gruppen nicht unterschiedlich,

dagegen war die intrinsische Clearance nach Verabreichung der hohen Dosis reduziert. Das Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis und der Quotient aus Gesamtkonzentration in der Leber und freier Konzentration im Serum nahmen nach der hohen Dosis verglichen mit der niedrigen Dosis um nahezu 50% ab. Diese Befunde ließen sich zwanglos mit einer zu sättigenden Gewebsproteinbindung und einer Sättigung der abbauenden Enzyme in der Leber bei steigender Dosis erklären.

Darüberhinaus waren die pharmakokinetischen Parameter in beiden Behandlungsgruppen abhängig von der Serumproteinbindung. Es ergaben sich lineare Beziehungen zwischen dem freien Anteil von Phenprocoumon im Serum und dem Verteilungsvolumen, zwischen dem freien Anteil und der Plasmaclearance und zwischen dem freien Anteil und dem Leber/Plasma-Konzentrationsverhältnis. Jedoch war der Regressionskoeffizient dieser Beziehungen jeweils kleiner nach Verabreichung der hohen Dosis verglichen mit der niedrigen Dosis. Die intrinsische Clearance war dagegen unabhängig vom Ausmaß der Proteinbindung im Serum. Der gerinnungshemmende Effekt von Phenprocoumon pro Dosis war im Falle der niedrigen Dosis unabhängig vom freien Anteil im Serum, nahm aber bei der hohen Dosis mit steigendem freien Anteil im Serum ab.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Elimination und Verteilung von Phenprocoumon in Ratten sowohl von der Dosis als auch vom Ausmaß der Serumproteinbindung abhängig ist. Nach Erhöhung der Dosis von 0,1 auf 1,0 mg · kg⁻¹ Phenprocoumon kommt es zu einer Sättigung der Gewebsproteinbindung und zu einer Sättigung der abbauenden Enzyme in der Leber. Dieses hat zur Folge, daß der Einfluß der Serumproteinbindung auf die Elimination und Verteilung von Phenprocoumon mit steigender Dosis abnimmt. Offenbar wird mit zunehmender Sättigung der Ge-

webspoteinbindung die Redistribution der freien Konzentration im Serum gehemmt. Die gerinnungshemmende Wirkung von Phenprocoumon ist nach der niedrigen Dosis unabhängig vom Ausmaß der Serumproteinbindung, weil mit steigendem freien Anteil im Serum die totale Clearance gleichermaßen zunimmt. Hierdurch kommt es zu keiner Änderung der pharmakodynamisch bedeutungsvollen freien Konzentration im Serum. Nach hoher Dosis nimmt dagegen die gerinnungshemmende Wirksamkeit mit zunehmendem freien Anteil im Serum ab. Diese Abnahme reflektiert die zunehmende Hemmung der Distribution der freien Serumkonzentration in die Leber mit zunehmender freier Konzentration im Serum.

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Bachmann, K., Shapiro, R.: Protein binding of coumarin anticoagulants in disease states. Clin. Pharmacokin. 2, 110-126 (1977)
- Gibaldi, M., Levy, G., McNamara, P.J.: Effect of plasma protein and tissue binding on the biologic half-life of drugs. Clin. Pharmacol. Ther. 24, 1-4 (1978)
- Gibaldi, M., McNamara, P.J.: Tissue binding of drugs. J. Pharm. Sci. 66, 1211-1212 (1977)
- Gibaldi, M., McNamara, P.J.: Apparent volumes of distribution and drug binding to plasma proteins and tissues. Eur. J. Clin. Pharmacol. 13, 373-378 (1978)
- Haddock, R.E., Trager, W.F., Pohl, L.R.: Biotransformation of phenprocoumon in the rat. J. Med. Chem. 18, 519-523 (1975)
- Jähnchen, E., Levy, G.: Relationship between distribution, elimination and anticoagulant action of dicumarol. J. Pharmacol. Exp. Ther. 188, 293-299 (1974)
- Jähnchen, E., Meinertz, T., Gilfrich, H.-J., Groth, U., Martini, A.: The enantiomers of phenprocoumon: Pharmacodynamic and pharmacokinetic studies. Clin. Pharmacol. Ther. 20, 342-349 (1976)
- Kelly, J.G., O'Malley, K.: Clinical pharmacokinetics of oral anticoagulants. Clin. Pharmacokin. 4, 1-15 (1979)
- Koch-Weser, J., Sellers, E.M.: Drug interactions with coumarin anticoagulants. N. Engl. J. Med. 285, 487-498 und 547-558 (1971)

- Levy, G.: Effect of plasma protein binding of drugs on duration and intensity of pharmacological activity. J. Pharm. Sci. 65, 1264-1275 (1976)
- Levy, G., Lai, C.-M., Yacobi, A.: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XXXII: Inter-individual differences in binding of warfarin and dicumarol in rat liver and implications for physiological pharmacokinetic modeling. J. Pharm. Sci. 67, 229-231 (1978)
- Levy, G., Yacobi, A. : Effect of plasma protein binding on elimination of warfarin. J. Pharm. Sci. 63, 805-806 (1974)
- Linder, A.: Statistische Methoden, 4. Aufl., S. 165-166, Basel-Stuttgart: Birkhäuser-Verlag (1964)
- McNamara, P.J., Levy, G., Gibaldi, M.: Effect of plasma protein and tissue binding on the time course of drug concentration in plasma. J. Pharmacokinet. Biopharm. 7, 195-206 (1979)
- Nagashima, R., O'Reilly, R.A., Levy, G.: Kinetics of pharmacologic effects in man: The anticoagulant action of warfarin. Clin. Pharmacol. Ther. 10, 22-35 (1969)
- Øie, S., Guentert, T.W., Tozer, T.N.: Effect of saturable binding on the pharmacokinetics of drugs: a simulation. J. Pharm. Pharmacol. 32, 471-477 (1980)
- O'Reilly, R.A., Aggeler, P.M.: Determinants of the response to oral anticoagulant drugs in man. Pharmacol. Rev. 22, 35-96 (1970)

- O'Reilly, R.A., Aggeler, P.M., Leong, L.S.: Studies on the coumarin anticoagulant drugs: A comparison of the pharmacodynamics of dicumarol and warfarin in man. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 11, 1-22 (1964)
- Quick, A.J.: Hemorrhagic diseases and thrombosis, ed. 2, pp. 391, 445, Philadelphia: Lea & Febiger (1966)
- Roth, R.A., Rubin, R.J.: Role of blood flow in carbon monoxide- and hypoxic hypoxia-induced alterations in hexobarbital metabolism in rats. *Drug. Metab. Dispos.* 5, 460-467 (1976)
- Rowland, M., Tozer, T.N.: Clinical pharmacokinetics - concepts and applications, ed. 1, Philadelphia: Lea & Febiger (1980)
- Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag (1969)
- Schmidt, W., Jähnchen, E.: Stereoselective drug distribution and anticoagulant potency of the enantiomers of phenprocoumon in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 29, 266-271 (1977)
- Schmidt, W., Jähnchen, E.: Interaction of phenylbutazone with racemic phenprocoumon and its enantiomers in rats. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 7, 643-663 (1979)
- Seiler, K., Duckert, F.: Properties of 3-(1-phenyl-propyl)-4-oxycoumarin (Marcoumar^R) in the plasma when tested in normal cases and under influence of drugs. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 19, 389-396 (1968)

- Takada, K., Levy, G.: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XLIII: Concentration-dependent hepatic uptake of warfarin in rats. J. Pharm. Sci. 68, 1569-1571 (1979)
- Takada, K., Levy, G.: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XLIV: Dose-dependent pharmacokinetics of warfarin in rats. J. Pharm. Sci. 69, 9-14 (1980)
- Trenk, D., Jähnchen, E.: Effect of serum protein binding on pharmacokinetics and anticoagulant activity of phenprocoumon in rats. J. Pharmacokinet. Biopharm. 8, 177-191 (1980)
- Wilkinson, G.R., Shand, D.G.: A physiological approach to hepatic drug clearance. Clin. Pharmacol. Ther. 18, 377-390 (1975)
- Wingard, L.B., Levy, G.: Kinetics of anticoagulant effect of dicumarol in rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 184, 253-260 (1973)
- Yacobi, A., Levy, G.: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XIV: Relationship between protein binding, distribution, and elimination kinetics of warfarin in rats. J. Pharm. Sci. 64, 1660-1664 (1975)

L E B E N S L A U F

Am 28. März 1956 wurde ich als Sohn des Winzers Helmut Winkelmann und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Rings in Bad Dürkheim geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Grundschule in Gimmeldingen. Danach wechselte ich zum Leibniz-Gymnasium in Neustadt an der Weinstrasse über, wo ich im Mai 1975 die Reifeprüfung im mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig ablegte. Anschließend begann ich im Oktober 1975 mit dem Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Seit Oktober 1979 bin ich am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz mit Untersuchungen zu meiner Dissertation beschäftigt. Zum Wintersemester 80/81 trat ich mein Praktisches Jahr an.

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. E. Jähnchen

für die Vergabe der Arbeit und seine
jederzeitige Hilfsbereitschaft bei
der Bearbeitung der Problematik.

Ferner bin ich

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Bolt

für seine Unterstützung der
Arbeit zu Dank verpflichtet.

